Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Würzburg

Vorstand: Professor Dr. Dr. W. Neumann

Membranpotential- und Längenänderung des Skelettmuskels unter dem Einfluss tierischer Gifte.

INAUGURAL - DISSERTATION

verfasst und der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

der

JULIUS - MAXIMILIANS - UNIVERSITÄT WÜRZBURG

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Hilde Heydenreich

aus

Coburg

Würzburg 1957

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543524_0062

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Würzburg

Vorstand: Professor Dr. Dr. W. N e u m a n n

M e m b r a n p o t e n t i a l - u n d L ä n g e n - ä n d e r u n g d e s S k e l e t t m u s k e l s u n t e r d e m E i n f l u s s t i e r i s c h e r G i f t e .

INAUGURAL - DISSERTATION

verfasst und der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

der

JULIUS - MAXIMILIANS - UNIVERSITÄT WÜRZBURG

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Hilde H e y d e n r e i c h

aus

Coburg

Würzburg 1957

Referent: Privatdozent Dr. E. H a b e r m a n n
Korreferent: Professor Dr. Dr. W. N e u m a n n

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Tag der mündl. Prüfung:
30. Januar. 1967.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Würzburg

Meinen Eltern in Dankbarkeit

INHALTSÜBERSICHT

		Seite
A.)	Einleitung	1
B.)	Eigene Versuche	3
I.)	Methodik	3
II.)	Ergebnisse	7
1.)	Versuche am isolierten, durchschnittenen Froschsartorius	1o
	a) Bienengift: Nativgift	1o
	gereinigtes Gift	11
	Fraktion I	11
	b) Schlangengifte: Naja tripudians	12
	Naja haje	13
	Naja nigricollis	13
	Crotalus terrificus	13
	Vipera ammodytes	14
	c) Lysocithin	14
	d) Histamin	15
	e) Dinitrophenol	15
	f) Digitonin	15
2.)	Versuche am isolierten, undurchschnittenen Sartorius	16
	a) gereinigtes Bienengift	16
	b) Dinitrophenol	16
3.)	In vivo-Versuche: Beeinflussung des Membranpotentials durch	17
	a) Urethannarkose des Frosches	17
	b) gereinigtes Bienengift	19
	c) Naja nigricollis- Gift	19
4.)	Phosphataustritt aus dem isolierten Froschsartorius	2o
	a) ohne Gifteinwirkung	21
	b) nach Zusatz von gereinigtem Bienengift	22
	Bienengift- Fraktion I	22
	Naja haje- Gift	23
C.)	Besprechung	23
D.)	Zusammenfassung	27
	Tabellen	28
E.)	Literaturverzeichnis	4o

Als bevorzugtes Objekt für das Studium von Permeabilitätsänderungen diente bisher vor allem der Erythrocyt, da Veränderungen der Membrandurchlässigkeit durch die eintretende Haemolyse relativ leicht und auch quantitativ zu erfassen sind. Eine entsprechende Wirkung auf den Skelettmuskel ist dagegen schwieriger zu erkennen.

ROTHSCHUH untersuchte die elektrischen Entladungsvorgänge an der verletzten Skelettmuskelfaser. Er fand, dass der Prozess des Absterbens und des Potentialverlustes keinen notwendigen Zusammenhang besitzt, dass aber der Verlust des Membranpotentials stets mit Erregbarkeitsverlust, starker Permeabilitätszunahme, Verlust der Kontraktilität und dem Auftreten einer Kontraktur einhergeht. FLECKENSTEIN und Mitarbeiter wiesen darauf hin, dass jede Muskelkontraktion nicht nur von einem Abfall des Membranpotentials, sondern auch von einem Kaliumaustritt begleitet wird. FLECKENSTEIN bezeichnet den Zusammenbruch des Membranpotentials als eigentliche Ursache der Muskelkontraktion und den Muskel selbst als osmodynamische Maschine. Nach FLECKENSTEIN, WAGNER und GÖGGEL verändert sich am Froschrectus unter dem Einfluss depolarisierender Substanzen die Muskellänge etwa in linearer Abhängigkeit von der Höhe des Membranpotentials. Der Sartorius als nichttonischer Muskel zeigt nach den Angaben derselben Autoren diese Proportionalität weniger deutlich.

Gewisse Schlangengiftwirkungen auf den quergestreiften Muskel sind schon lange bekannt. HOUSSAY und MAZZOCCO beobachteten am isolierten Froschmuskel unter Schlangengifteinwirkung fibrilläre Zukkungen, irreversible Kontrakturen und eine Permeabilitätserhöhung für anorganisches Phosphat. Auch die Muskelquellung und Kaliumfreisetzung durch Schlangengift und Lysocithin wird bereits von HOUSSAY und Mitarbeitern sowie KELLAWAY und Mitarbeitern beschrieben. FULCHIGNONI fand am in vivo mit Schlangengift vergifteten Muskel fibrilläre Zuckungen.

In den letzten Jahren ist neben den Schlangengiften auch das Bienengift Gegenstand zahlreicher Untersuchungen gewesen. NEUMANN und HABERMANN wiesen nach, dass Fraktion I die eigentliche muskelwirksame Komponente des Bienengifts darstellt, und dass Muskelwirksamkeit und Fermentaktivität von einander trennbar sind. SCHLÖGL und RÖTHEL bestätigten dies mit etwas anderer Methodik.

HOFMANN beobachtete, in Übereinstimmung mit Bienengiftversuchen von HÜLSTEDE und SPÄTH, an isolierten Temporarienmuskeln unter der

Einwirkung von Bienen- und Cobragift (Naja tripudians) jeweils eine rasche Initialverkürzung, der nach einer Wiedererschlaffungsphase eine sich langsamer ausbildende Sekundärkontraktur folgte. Diese ging jedoch am Sartorius nach 2o - 4o Minuten völlig zurück. Normalerweise führt nach Versuchen von FLECKENSTEIN und Mitarbeitern sowie ROTHSCHUH und Mitarbeitern eine Depolarisation des Muskels zur Kontraktur, während andererseits eine Wiederverlängerung des Muskels gewöhnlich mit einer Repolarisation einhergeht. Eine Ausnahme von der letztgenannten Regel machen nach FLECKENSTEIN die sogenannten Schädigungskontrakturen, bei denen das Membranpotential trotz der stattfindenden Muskelerschlaffung weiter abnimmt. HOFMANN hält es für möglich, dass die rasche Initialverkürzung nach Bienengift wenigstens teilweise eine echte Erregungskontraktur ist, da sie am Froschgastrocnemius durch längere Novocainvorbehandlung unterdrückt werden kann ("anelektrotonische Wirkung der Lokalanaesthetica" nach FLECKENSTEIN).

LAMPARTER untersuchte die permeabilitätserhöhende Wirkung von Bienen- und Schlangengift in Bezug auf die Wasseraufnahme von Froschmuskeln, HABERMANN in Bezug auf die Kaliumfreisetzung. Er fand unter der Einwirkung von nativem und gereinigtem Bienengift sowie Fraktion I eine deutliche Erhöhung der Permeabilität von Froschgastrocnemien im Hinblick auf die Wasseraufnahme. Colubridengifte waren erheblich wirksamer als Bienengift, während sich Viperidengifte als wenig aktiv erwiesen. Lysocithin führte nur in hohen Konzentrationen zur Quellung der Muskel. Phospholipase A, Hyaluronidase sowie Histamin zeigten keinen Effekt. HABERMANN konnte bei Bienengift, Colubriden- und Viperidengiften sowie Lysocithin eine der Muskelquellung entsprechende Wirkungsreihe in Bezug auf die Kaliumfreisetzung aus Froschgastrocnemien aufstellen. Als sehr stark wirksam erwies sich hier auch das Digitonin.

Über die Wirkung tierischer Gifte auf das Membranpotential von Froschmuskeln, die nach den Permeabilitätsversuchen erwartet werden konnte, war bis jetzt noch nichts bekannt, ebensowenig über den Zusammenhang zwischen Potentialabfall und Kontrakturerzeugung am isolierten Sartorius unter Einwirkung obengenannter Gifte.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollte daher am isolierten Froschmuskel zunächst die Frage der Beziehung zwischen Potentialerniedrigung und Kontrakturerzeugung durch tierische Gifte in qualitativer und quantitativer Hinsicht untersucht werden. Weiterhin interessierte uns das Verhalten des Membranpotentials nach Giftin-

jektionen. Schliesslich wurde die Permeabilität gegenüber Phosphat einer gesonderten Prüfung unterzogen.

B.) Eigene Versuche

I.) Methodik:

Wir benutzten zu allen Versuchen Temporarien, die Anfang September gefangen worden waren. Die Frösche wurden 1 - 2 Tage vor Versuchsbeginn in einen Raum von ca 2o° C gebracht. Der Frosch wurde dekapitiert, das Rückenmark ausgebohrt, die Haut abgezogen und das Tier kurz mit Leitungswasser, bei den Phosphatbestimmungen mit aqua bidest. abgespült Die Sartorien wurden vorsichtig vom Ansatz der Kniesehne bis zum proximalen Ende präpariert und herausgeschnitten. An der distalen Sehne wurde eine Fadenschlinge befestigt. Zur Membranpotentialmessung durchschnitten wir die Muskeln etwa 1 - 2 mm vor dem Beckenansatz.

Die Bestimmung der Membranpotentiale erfolgte mit dem pH-Millivoltmeter der Fa. Lautenschläger / München. Zur Ableitung dienten unpolarisierbare Zink- Zinksulfat- Tonpfropf- Elektroden, die durch mit Ringerlösung getränkte, am Muskelende zugespitzte Filtrierpapierstreifen mit dem Muskel in Verbindung standen. Es wurde jeweils das Potential zwischen der Schnittfläche und mehreren Punkten des Muskels gemessen und der Durchschnitt errechnet. Die höchste Spannung lag nicht immer an bestimmten Stellen, wenn sie auch um die Eintrittsstelle der Gefasse in der Mitte der Vorderseite der Sartorien gewöhnlich relativ hoch war. Wie schon SCHAEFER betonte, schwankt das Potential des gleichen Muskels gegenüber der gleichen Schnittstelle bei Ableitung von verschiedenen Punkten der Oberfläche oft um mehrere mV, selbst wenn der Muskel sehr sorgfältig präpariert wurde. Höhere Werte erhielten wir oft durch nochmaliges Anfrischen der Schnittstelle. Nach der Potentialmessung wurde die Muskellänge ermittelt. Bei den Vorversuchen legten wir anschliessend den Vergleichsmuskel sofort in phosphathaltige Frosch- Ringerlösung, den anderen Sartorius in Phosphat- Ringer mit Giftzusatz. Bei den Hauptversuchen wurde das distale Ende mittels der Fadenschlinge, das proximale mit einem feinen Haken an einem isotonischen Hebel be-

festigt, dessen Belastung 3,39 g betrug. Die Hebelübersetzung war 7,4 : 1. Die Kurve vor und während der 15 minütigen Einwirkung von Phosphat- Ringer bzw. Giftlösung wurde auf einem Russkymographion registriert. Zunächst hingen die Muskeln etwa 2 Minuten an der Luft zur Feststellung der Grundlinie, dann wurden sie in die betreffende Lösung eingetaucht. Nach 15 Minuten bestimmten wir wieder das Membranpotential und die Länge der Muskeln.

Den Versuchen mit durchschnittenen Sartorien stellten wir bei gereinigtem Bienengift und Dinitrophenol solche mit unverletzten Muskeln gegenüber. Hierzu wurden die Muskeln an beiden Sehnenenden mit Fadenschlinge abgebunden und an den Ansätzen herausgeschnitten. Eine Potentialmessung war natürlich nicht möglich. Die Sartorien wurden nun mit den Schlingen am isotonischen Hebel befestigt. Belastung und weiterer Versuchsverlauf wie bei den durchschnittenen Muskeln. Nach 15 minütiger Phosphat- Ringer- bzw. Gifteinwirkung schnitten wir die Muskeln am proximalen Ende durch und stellten das Membranpotential fest.

Zur Feststellung der Giftwirkung auf das Membranpotential bei in vivo- Versuchen gingen wir folgendermassen vor: Die Frösche wurden abgetrocknet, gewogen und bekamen pro g Körpergewicht o,o37 ccm einer 1o %-igen Urethanlösung als Narkotikum in den Brustlymphsack eingespritzt. In einem Glasgefäss, dessen Boden mit Ringerlösung von 2o° C bedeckt war, beobachteten wir die Tiere. Nach der bei den einzelnen Versuchen angegebenen Zeit wurde der erste Sartorius, der als Vergleichsmuskel diente, durch einen Hautschnitt präpariert, zu etwa 2/3 herausgeschnitten, das Membranpotential bestimmt und die Hautwunde genäht. 3o Minuten nach der Urethan- Injektion spritzten wir die betreffende Giftlösung, ebenfalls in den Brustlymphsack. Nach einer weiteren Stunde wurde der zweite Sartorius ebenso wie der Kontrollmuskel präpariert und das Potential gemessen. Anschliessend wurde durch eine Thoraxeröffnung Herztätigkeit und Blutfarbe kontrolliert.

Die Frosch- RINGER- Lösung nach v. MURALT wurde jeden Tag aus 2 Stammlösungen hergestellt. Lösung I enthielt 6,5 g NaCl, o,2 g $CaCl_2$ und (in Anlehnung an ROTHSCHUH) o,1 g KCl auf 1 ooo ccm aqua bidest.; Lösung II 2,68 g sekundäres Natriumphosphat, 8o,6 ccm n/1o HCl und 19,4 ccm H_2O. 1oo ccm der Lösung I plus 2 ccm der Lösung II ergaben die verwendete Phosphat- Ringerlösung, deren pH etwa bei 6,6 lag.

Die verwendeten Substanzen waren:

Bienen- Nativgift (von HABERMANN mit Unterstützung der Fa. H. Mack Nachf., Illertissen, gewonnen)

Gereinigtes Bienengift, sog. Pikratgift, der Fa. H. Mack Nachf., Illertissen

Bienengift- Fraktion I, chromatographisch von F.G.FISCHER und W.P.NEUMANN dargestellt

Gift von Naja tripudians
Gift von Naja haje
Gift von Naja nigricollis
Gift von Crotalus terrificus
Gift von Vipera ammodytes
} von der Fa. Basilisk, Basel, bezogen

Lysocithin (von HABERMANN nach MAGISTRIS dargestellt und chromatographisch gereinigt)

Histamindihydrochlorid (Roche)

Dinitrophenol (Merck)

Digitoninum cristallisatum (Merck)

Urethan DAB 6

Zu den Phosphatbestimmungen wurden die Sartorien wie angegeben präpariert und dann auf der Torsionswaage gewogen. Um höhere Werte zu erhalten, nahmen wir hier grosse Tiere und ausserdem meist zwei Frösche pro Versuch. Bei den Vorversuchen zerrieben wir die Muskeln sofort anschliessend mit jeweils 6 ccm 5 %-iger, teilweise gefrorener Trichloressigsäure 5 Minuten lang und filtrierten. Das Filtrat war meist klar, selten schwach trüb. Bei den Versuchen mit Bienen- und Schlangengift legten wir die zwei Vergleichsmuskeln nach dem Wägen 30 Minuten in 5 ccm Frosch- Ringerlösung, (hier natürlich ohne Phosphat- Zusatz), die beiden anderen Sartorien in 5 ccm der betreffenden Giftlösung. Dann wurden sie in 6 ccm 5 %-iger Trichloressigsäure 5 Minuten zerrieben und filtriert. Zur Ringer- bzw. Giftlösung gaben wir, sobald die Muskeln aus den Schälchen genommen waren, 1 ccm 30 %-ige Trichloressigsäure.

Das anorganische Phosphat wurde im Muskelextrakt sowie in den umgebenden Lösungen bestimmt. Wir wählten die Phosphatbestimmung von FISKE und SUBBAROW in der Modifikation von LOHMANN und JENDRASSIK, jedoch wurde statt Aminonaphtholsulfosaure Metol (TSCHOPP und TSCHOPP) verwendet, und ausserdem wurde eine höhere H_2SO_4- Konzentration im Ansatz benutzt, wodurch nach HABERMANN die Phosphatwerte in Abhängigkeit von der Zeit erheblich stabiler sind. Bei jedem

Versuch wurde mit Trichloressigsäure-haltigen Phosphatlösungen bekannter Konzentration eine Eichkurve aufgestellt. Als Stammlösung hierzu diente eine KH_2PO_4- Verdünnung, welche 1 mg Phosphat / ccm enthielt. Die Metollösung setzte sich zusammen aus: o,5 g Metol in 195 ccm 15 % $NaHSO_3$ plus 5 ccm 2o % Na_2SO_3. Der Ansatz lautete:

1o ccm aqua bidest.
plus 1 ccm Filtrat (bzw. Gift- oder Ringerlösung)
plus 1 ccm H_2SO_4 (aus 1o ccm konz. H_2SO_4 plus 9o ccm aqua bidest.)
plus 2 ccm 2,5 % Ammonmolybdat
plus 1 ccm Reagens (= Metollösung)
mit aqua bidest. auf 25 ccm auffüllen.

Die Kölbchen wurden kurz geschüttelt und 5 Minuten in ein Wasserbad von 37° C gestellt. Dann kühlten wir sie in Leitungswasser ab. Nach 25 - 4o Minuten wurden die Werte mit dem UNICAM- Spectrophotometer bei 82o mμ gemessen.

Das organisch gebundene Phosphat (plus dem anorganischen Phosphat) wurde nach HINSBERG - LANG wie folgt gefunden: In einem Kjeldahlkolben wurden 1 ccm Trichloressigsäure- Extrakt plus 1 ccm 2 n H_2SO_4 plus o,2 ccm 2 n HNO_3 bei kleiner Flamme auf dem Asbestnetz eingeengt bis Dämpfe auftraten. Das Erhitzen war zur Zerstörung der gebildeten Metaphosphorsäure erforderlich. Nach Abkühlung gaben wir 3 ccm aqua bidest. zu und engten bis auf etwa 1 ccm ein. Weiterer Verlauf wie bei "anorganischem Phosphat".

Berechnung der Phosphatmengen.

Die Extinktionswerte wurden folgendermassen ausgewertet: Auf Grund der jeweiligen Eichkurve stellten wir die Phosphatwerte für 1 ccm der Muskel- bzw. Ringerlösungen fest. Die durch das Zerreiben der Muskeln in die Trichloressigsäure gelangte Flüssigkeitsmenge wurde auf o,1 ccm geschätzt. Wir legten den Berechnungen also eine Filtratmenge von 6,1 ccm zugrunde. Da die Phosphatlösungen der Eichkurve 1 : 1 mit Trichloressigsäure verdünnt waren, mussten die auf der Eichkurve abgelesenen γ- Phosphatwerte der Muskellösungen mit 3,o5 multipliziert werden, um das insgesamt erfasste Phosphat zu erhalten. Bei den (Gift-) Ringerlösungen multiplizierten wir den abgelesenen γ- Phosphatwert mit 3,o. Als Grundformel diente beim

Trichloressigsäure- Filtrat $\frac{\text{abgelesener } \gamma\text{- Phosphatwert} \times 6{,}1}{2}$

bei der (Gift-) Ringerlösung $\frac{\text{abgelesener } \gamma\text{- Phosphatwert} \times 6{,}0}{2}$.

Da bei den erhitzten Filtratlösungen bei der Extinktion das orga-

nisch gebundene Phosphat zusammen mit dem anorganischen gemessen wurde, subtrahierten wir nach der Multiplikation mit dem Faktor 3,05 das für sich allein bestimmte anorganische Phosphat vom Gesamtwert. Auf diese Weise erhielten wir das organische Phosphat.

Alle Zahlen rechneten wir auf γ P / mg Muskel um, d.h. wir teilten sie durch das Gewicht der betreffenden Sartorien. Das Gesamtphosphat / mg Muskel ergibt sich durch Addition des ausgetretenen und des im Muskel zurückgebliebenen Phosphats.

II.) Ergebnisse:

Das arithmetische Mittel aller Anfangspotentiale errechneten wir mit 55,8 mV, was mit den von ROTHSCHUH angegebenen Zahlen gut übereinstimmt. Die mittlere Abweichung (σ) von diesem Mittelwert betrug $\pm$ 6,1 mV. Die Streuung der frischen Verletzungspotentiale zwischen rechtem und linkem Sartorius ergab im Durchschnitt 3,2 mV, was wiederum den Beobachtungen von ROTHSCHUH entspricht.

Berechnung der Potentialdifferenz (= P).

Das Membranpotential jedes Muskels nach 15 Minuten wurde in Prozenten des Ausgangswertes (= 100 %) angegeben. Die Potentialdifferenz (= P) errechnete sich aus den so gefundenen Zahlen des Vergleichsmuskels in Phosphat- Ringerlösung vermindert um den Prozentwert des Giftmuskels. In einigen Fällen war der nach 15 Minuten bestimmte prozentuale Potentialwert des Giftmuskels höher als der des Kontrollsartorius, was wir in den Tabellen durch ( ) kennzeichnen.

Form und Auswertung der Kurven.

Übereinstimmend mit den Temporarien- Versuchen von HOFMANN fanden auch wir bei den wirksamen Konzentrationen von Bienen- und Schlangengift sowie bei anderen untersuchten Giften neben einer rasch einsetzenden Initialverkürzung eine sich langsamer entwickelnde Sekundärkontraktur, deren Beginn gewöhnlich in die Wiedererschlaffungsphase der Anfangsverkürzung fiel. Wegen der relativ kurzen Versuchsdauer (15 Minuten) konnten wir jedoch die von ihm angegebene spontane Wiederverlängerung nach 20 - 40 Minuten nur selten und dann nur angedeutet wahrnehmen. Das Membranpotential sinkt hier-

bei weiter ab, was nach FLECKENSTEIN charakteristisch für die sogenannten Schädigungskontrakturen ist.

Die Höhe der Primär- und Sekundärkontraktion (bzw. - Kontraktur) der Muskeln wurde auf den Kurven ausgemessen und die Zahlen - entsprechend der Hebelübersetzung - durch 7,4 dividiert. Die so gefundenen Werte der Sekundärkontraktur nach 15 Minuten lagen bei den Giftmuskeln den weiteren Berechnungen zu Grunde: Die Ausgangslänge wurde gleich 1oo % gesetzt und aus der Sekundärverkürzung des Muskels die prozentuale Längenabnahme (= L) bestimmt. Diese wurde in dem Quotienten L / P in Beziehung zur Potentialdifferenz gebracht. * Die Höhe der Primärkontraktion war weniger charakteristisch.

Die Phosphat- Ringer- Muskeln zeigten ebenfalls meist eine minimale Primärverkürzung und in Ausnahmefällen auch leichte fibrilläre Zuckungen. Die Längenabnahme dieser Muskeln betrug nach 15 Minuten - in unbelastetem Zustand gemessen - 0 bis 2 mm, ohne dass dies auf den Kurven in einer Sekundärkontraktur zum Ausdruck gekommen wäre (Abb. 1). Das Gleiche beobachteten wir auch häufig bei den schwächer bzw. nicht wirksamen Giftkonzentrationen.

Abb. 1
Einwirkung von Phosphat- Ringerlösung auf den Frosch- Sartorius.
15 Minuten
Hebelbelastung 3,39 g
Hebelübersetzung 7,4 : 1
pH 6,6

---

* Anm.: Die in den Tabellen unter den Spalten " Prozentuale Längenänderung nach 15 Minuten " und " L / P " angegebenen zweiten Stellen nach dem Komma haben nur rechnerische Bedeutung. Sie werden deshalb im Text gerundet wiedergegeben.

Alle Tabellen sind am Schluss der Arbeit zusammengefasst.

Das Verletzungspotential der Sartorien nach 15 Minuten Aufenthalt in Phosphat- Ringerlösung war im Durchschnitt auf 7o,1 % des Ausgangswertes gesunken. Die mittlere Abweichung von diesem Mittelwert betrug ± 7,5 %, was auf eine deutliche individuelle Schwankungsbreite der einzelnen Frösche hinweist.

Nach der Einwirkung stark wirksamer Giftkonzentrationen erschienen die Muskeln schon makroskopisch verändert, was auch LAMPARTER beschrieb. Vor allem fiel gegenüber den Vergleichsmuskeln neben der stärkeren Verkürzung eine schwache Körnelung, eine gewisse Härte und ein helleres Aussehen auf.

Änderung der Versuchsbedingungen.

Bei Phosphat- Ringerlösung pH 7,1 ergab sich gegenüber der normalerweise benutzten von pH 6,6 kein nennenswerter Unterschied im Potentialabfall (Einstellung mit NaOH). (Tab. 1).

Eine Belastung von 1,39 g gegenüber der von 3,39 g (Tab. 2) zeigte etwas differierende prozentuale Membranpotentialwerte. Auffällig war, dass bei einem der weniger belasteten Sartorien etwa 5 Minuten andauernde fibrilläre Zuckungen auftraten, während bei einem anderen Muskel neben einer deutlichen Primärkontraktion und schwachen fibrillären Zuckungen auch eine Sekundärverkürzung zu sehen war. Bei einem dritten Versuch zeigte sich kurvenmässig keinerlei Effekt.

Um festzustellen, ob eine Zufuhr von Luft das Membranpotential merklich beeinflusst, liessen wir verschieden starke Luftmengen durch die Phosphat- Ringerlösung perlen (Tab. 3). Bei starker und mittlerer Luftzufuhr fiel - bis auf einen Versuch - das Membranpotential bedeutend stärker ab als beim Vergleichsmuskel, während bei schwacher Luftzufuhr das Verletzungspotential im Verhältnis zur Kontrolle keinen Unterschied aufwies. Vielleicht sprach bei starker und mittelstarker Luftzufuhr eine traumatische Schädigung der Muskeln mit. Eine Verkürzung gegenüber dem Kontrollmuskel wurde nur bei sehr starker Luftzufuhr - verbunden mit hohem Potentialabfall - festgestellt.

1.) Versuche mit isolierten, durchschnittenen Sartorien.

Bei Prüfung von Ringerlösung mit und ohne Phosphatzusatz (Tab. 4) erwies sich, dass in ersterer das Membranpotential etwas schwächer abfällt, weshalb sie zu unseren Versuchen geeigneter erschien.

Bei den Vorversuchen, (Tab. 5), wobei die Muskeln unbelastet in einem Schälchen mit der betreffenden Lösung lagen, war bei den Giftmuskeln eine stärkere Verkürzungstendenz verbunden mit einem höheren Membranpotentialabfall zu beobachten. Wir untersuchten hier gereinigtes Bienengift sowie Fraktion I, beides in den Konzentrationen von 1:1o ooo - 1:16o ooo. Gereinigtes Bienengift ergab in der Verdünnung 1:1o ooo mit einer Potentialdifferenz von 62,2 % gegenüber Fraktion I 1:1o ooo mit 61,7 % fast denselben Wert. Bei den Konzentrationen 1:2o ooo - 1:16o ooo wirkte gereinigtes Bienengift etwas stärker, jedoch zeigte sich bei beiden Giftarten ein kontinuierlicher Abfall der Differenz zwischen Vergleichs- und Giftmuskel, die bei 1:8o ooo noch sehr deutlich, dagegen bei 1:16o ooo nicht mehr ganz signifikant war. Die Fraktion I - Konzentration 1:2o ooo fiel mit der Potentialdifferenz von nur 8,8 % aus der Reihe.

Bei allen folgenden Versuchen waren sowohl Vergleichs- als auch Giftmuskel am isotonischen Hebel befestigt. Wir untersuchten zunächst die Wirkung von Bienengift in Bezug auf das Membranpotential und die Länge der Muskeln. Geprüft wurden Nativgift, gereinigtes Gift und Fraktion I. Versuche mit Schlangengiften und anderen Substanzen schlossen sich an.

a) Versuche mit Bienengift.

Bienen- Nativgift (Tab. 6) rief in der Konzentration 1:1o ooo eine Potentialdifferenz von 35,5 % hervor. Drei Versuche mit der Konzentration 1:2o ooo ergaben streuende Werte. Die Verdünnung 1:4o ooo zeigte keinen nennenswerten Potentialunterschied zwischen Kontroll- und Giftmuskel, während die Differenz bei der Konzentration

1:8o ooo wieder auf 16,5 % anstieg. Die Höhe der Primär- und Sekundärkontraktionen liess keine Gesetzmässigkeit erkennen. Die Längenabnahme betrug bei der Konzentration 1:2o ooo 6,7 % bzw. 11,5 %, bei 1:4o ooo 6 %, bei 1:8o ooo war sie Null.

Gereinigtes Bienengift (Tab. 7) verursachte in den Verdünnungen 1:2o ooo bis 1:16o ooo deutliche Unterschiede des Membranpotentials zwischen Gift- und Vergleichsmuskeln. Bei der Konzentration 1:32o ooo lag das Potential des vergifteten Sartorius über dem des Kontrollmuskels. Sekundärkontrakturen wurden bis zur Verdünnung 1:8o ooo ausgelöst und liessen eine gewisse Abhängigkeit von der Konzentration erkennen. Die Längenabnahme ging von 2o % bei der Konzentration 1:2o ooo über 8,1 % bei 1:4o ooo, 2,5 % bei 1:8o ooo auf 0 % bei 1:16o ooo und 1:32o ooo zurück. Bei den Verdünnungen 1:2o ooo (Abb. 2) und 1:4o ooo waren die Primärverkürzungen auffallend hoch.

Versuche mit Bienengift- Fraktion I (Tab. 8) ergaben bei den Konzentrationen 1:2o ooo, 1:4o ooo und 1:8o ooo fast gleichhohe Potentialdifferenzen, auch die Verdünnung 1:16o ooo war noch deutlich wirksam. Eine Sekundärverkürzung rief sie allerdings im Vergleich zu den höheren Konzentrationen nicht mehr hervor. Die Längenabnahme betrug bei der Verdünnung 1:2o ooo 11,5 %, bei 1:4o ooo 7,3 %, bei 1:8o ooo 1,7 % und bei 1:16o ooo 0 %. Die Primärkontraktionen waren bei den Verdünnungen 1:2o ooo (Abb. 3) und 1:4o ooo sehr stark, auch bei 1:8o ooo und 1:16o ooo traten sie noch deutlich hervor. Bei den beiden letztgenannten Konzentrationen traten gehäufte fibrilläre Zuckungen auf.

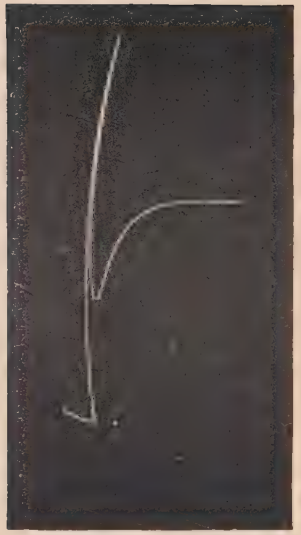

Abb. 2
Einwirkung von gereinigtem Bienengift auf den Frosch- Sartorius
1:2o ooo
15 Minuten

Abb. 3
Einwirkung von Bienengift- Fraktion I auf den Frosch- Sartorius
1:2o ooo
15 Minuten

b) Versuche mit Schlangengiften.

Colubridengifte:

Das Gift der indischen Kobra (Naja tripudians) (Tab. 9) erwies sich bis zur Konzentration 1:8o ooo deutlich, bei 1:16o ooo nur noch schwach wirksam. Am stärksten beeinflusste die Verdünnung 1:4o ooo den Abfall des Membranpotentials (P = 38,3 %). Alle Konzentrationen - bis auf 1:8o ooo - riefen Sekundärkontrakturen und teils stärkere, teils schwächere fibrilläre Zuckungen hervor, was bereits von HOUSSAY und MAZZOCCO beschrieben wurde. Die Längenänderung war mit 12,1 % bei der Konzentration 1:2o ooo am stärksten, bei 1:8o ooo sank sie auf 0 %.

Naja haje- Gift (Tab. 1o) zeigte in den Konzentrationen 1:1o ooo bis 1:16o ooo Potentialdifferenzen von 31,6 % - 12,3 %. Wie beim Kobragift wirkte die Verdünnung 1:4o ooo mit P = 41,4 % am stärksten. Naja haje- Gift 1:32o ooo war ohne Effekt. Auffallend war bei der Konzentration 1:1o ooo (Abb. 4) eine sehr starke Sekundärkontraktur, die nach 15 Minuten ihren Höhepunkt noch nicht erreicht hatte und die Primärverkürzung deutlich übertraf. Ähnliches war auch bei den Verdünnungen 1:2o ooo und 1:4o ooo zu sehen. Die grösste Längenabnahme aller untersuchten tierischen Gifte rief die Verdünnung 1:1o ooo mit 25,6 % hervor. Auch bei 1:2o ooo und 1:4o ooo war sie mit 9,3 % bzw. 11,3 % stark, während sie bei 1:8o ooo auf 1 %, ab 1:16o ooo auf 0 % gesunken war. Bei der Giftkonzentration 1:1o ooo fielen ausserdem mittelstarke fibrilläre Zuckungen auf.

Die Versuche mit Naja nigricollis- Gift (Tab. 11) ergaben in den Konzentrationen 1:1o ooo bis 1:16o ooo eine deutliche Beeinflussung des Membranpotentials, während die Verdünnung 1:32o ooo nur einen schwachen Unterschied gegenüber der Kontrolle erkennen liess. Sekundärkontrakturen fanden sich bis zur Konzentration 1:8o ooo, teils starke fibrilläre Zuckungen bis 1:16o ooo. Die Längenabnahme ging bei den Konzentrationen 1:1o ooo bis 1:4o ooo von 11,7 % auf 1,7 % zurück, stieg bei 1:8o ooo wieder auf 3,4 % an und war bei den niedrigen Konzentrationen gleich Null.

Die Viperidengifte waren gegenüber den Colubridengiften viel schwächer wirksam.

Das Gift der südamerikanischen Klapperschlange (Crotalus terrificus) (Tab. 12) zeigte bei den Verdünnungen 1:2 5oo und 1:5 ooo Potentialdifferenzen von 12,7 % bzw. 6,8 %. Die Konzentrationen 1:1o ooo und 1:2o ooo waren nicht wirksam. Geringe Sekundärkontrakturen traten bei Konzentrationen 1:2 5oo und 1:5 ooo auf. Die Längenabnahme betrug bei den ebengenannten Konzentrationen o,5 % bzw. o,6 %. Stets fanden sich gehäufte fibrilläre Zuckungen, die besonders bei den Verdünnungen 1:2 5oo, (Abb. 5), 1:5 ooo und 1:1o ooo stark ausgeprägt waren. Auffallend war bei der zweiten Längenmesseung in nicht belastetem Zustand eine relativ starke Verkürzung der Muskeln.

Vipera ammodytes- Gift (Tab. 13) wirkte in der Konzentration 1:2 5oo etwa gleich dem Klapperschlangengift. Die Verdünnung 1:5 ooo war etwas schwächer, die 1:1o ooo etwas stärker wirksam als bei diesem. Sekundärverkürzungen und damit eine prozentuale Längenabnahme waren in keinem Fall zu beobachten, schwache fibrilläre Muskelzuckungen bei den Konzentrationen 1:2 5oo und 1:1o ooo. Bei der Verdünnung 1:2 5oo zeigte sich in unbelastetem Zustand eine verhältnismässig starke Kontraktion.

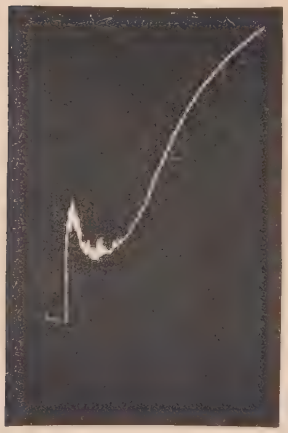

Abb. 4
Einwirkung von Naja haje- Gift auf den Frosch- Sartorius
1:1o ooo
15 Minuten

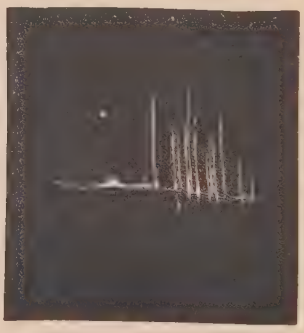

Abb. 5
Einwirkung von Crotalus terrificus- Gift auf den Frosch- Sartorius
1:2 5oo
15 Minuten

c) Lysocithin (Tab. 14) war nur in höheren Konzentrationen wirksam und rief streuende Potentialdifferenzen hervor. Die Konzentration 1:1 25o war weniger wirksam als 1:2 5oo und diese wieder weniger als 1:5 ooo. Zwei Versuche mit der Verdünnung 1:1o ooo ergaben mit der Potentialdifferenz 25,4 % und (o,3 %) stark differierende Werte. Bei der Verdünnung 1:2o ooo war das Membranpotential des Giftmuskels

nach 15 Minuten höher als das des Vergleichs- Sartorius. Sekundärkontrakturen fanden sich bei den Konzentrationen 1:1 25o, 1:2 5oo, 1:5 ooo und schwach bei 1:1o ooo. Bei den letztgenannten Verdünnungen traten sie verzögert auf. Die prozentuale Längenabnahme sank bei den Verdünnungen 1:1 25o bis 1:5 ooo kontinuierlich ab, war bei 1:1o ooo nur noch schwach ausgeprägt und bei 1:2o ooo gleich Null. Die Konzentrationen 1:2 5oo und 1:1o ooo führten zu fibrillären Zuckungen.

d) Histamin (Tab. 15) in der Verdünnung 1:1 ooo war sowohl auf das Verletzungspotential als auch auf die Länge der Muskeln ohne Einfluss. Dies stimmt mit den Angaben von LAMPARTER überein, der bei der gleichen Konzentration bei Permeabilitätsbestimmungen am Frosch- Gastrocnemius keinen Effekt, d.h. keine Quellung fand.

e) Eigenartig waren die Ergebnisse beim Dinitrophenol (Tab. 16). In den Konzentrationen 1:2 ooo, 1:2 5oo, 1:5 ooo und 1:1o ooo liess es starke Potentialdifferenzen erkennen, 1:2o ooo war wirkungslos. Dem hohen Potentialabfall der vergifteten Muskeln ging aber bei den erstgenannten Konzentrationen auf den Kurven merkwürdigerweise keine oder nur eine angedeutete Sekundärverkürzung parallel. Die Längenabnahme betrug bei der Verdünnung 1:2 ooo o,5 % , bei 1:5 ooo 1,7 %; alle anderen Kurven ergaben 0 %. Nach dem Wegfall der Belastung (3,39 g) waren die Muskeln jedoch stark kontrahiert, was wir bei unserer zweiten Längenmessung feststellten. Schwache fibrilläre Zuckungen wurden beobachtet. Da Dinitrophenol stark sauer reagiert, wurde es mit NaOH auf pH 6,85 eingestellt. Der pH- Wert der Phosphat- Ringerlösung betrug 6,6 (Bestimmung mit der Glaselektrode).

f) Digitonin (Tab. 17) ergab in den Verdünnungen 1:2 5oo, 1:5 ooo, 1:2o ooo und 1:8o ooo hohe Potentialdifferenzen, während 1:16o ooo und 1:32o ooo keinen Effekt zeigten. Die Sekundärkontrakturen waren bis zur Verdünnung 1:16o ooo ausgeprägt und in den hohen Konzentrationen sehr stark. Abbildung 6 zeigt die Wirkung der Verdünnung 1:5 ooo. Die Längenabnahme ging von 31,6 % bei der Konzentration 1:2 5oo über ebenfalls relativ hohe Werte bei den folgenden Verdünnungen auf 2,9 % bei 1:16o ooo bzw. 0 % bei 1:32o ooo zurück.Schwache fibrilläre Zuckungen beobachteten wir nur bei der Konzentration 1:32o ooo.

Abb. 6
Einwirkung von Digitonin
auf den Frosch- Sartorius
1:5 ooo
15 Minuten

2.) Versuche mit isolierten, undurchschnittenen Sartorien.

a) Auch unverletzte Sartorien wiesen nach 15 Minuten Aufenthalt in gereinigtem Bienengift 1:2o ooo und 1:4o ooo gegenüber dem Vergleichsmuskel einen deutlichen Potentialunterschied auf, der bei der Verdünnung 1:2o ooo 1o mV, bei 1:4o ooo 13,5 mV betrug (Tab. 18). Die prozentuale Differenz konnte hier wegen des fehlenden Ausgangswertes natürlich nicht errechnet werden. Die Sekundärkontrakturen waren schwächer als bei den durchschnittenen Muskeln. Sie dürften jedoch ungefähr dem wohl auch relativ geringeren Potentialabfall entsprechen. Die Längenabnahme betrug bei der Konzentration 1:2o ooo 11,5 %, bei 1:4o ooo 7,2 % bzw. 4,4 %.

b) Dinitrophenol in der Verdünnung 1:2 ooo und 1:4 ooo wurde vor Versuchsbeginn, ebenso wie die Phosphat- Ringerlösung, mit NaOH auf pH 6,8 eingestellt. Die Sartorien zeigten auch hier nach Einwirkung der Giftlösung im Vergleich zu den Kontrollen ein niedrigeres Membranpotential (Tab. 19). Bei der Konzentration 1:2 ooo lag es durchschnittlich 12,5 mV unter dem des Vergleichsmuskels, bei 1:4 ooo im

Durchschnitt 11,5 mV. Geringe Sekundärkontrakturen sowie leichte fibrilläre Zuckungen wurden bei der Verdünnung 1:2 ooo beobachtet. Die Muskellänge wurde nicht gemessen.

Die wirksamen Grenzkonzentrationen der am Frosch- Sartorius geprüften Substanzen werden in einer Übersicht nochmals zusammengestellt:

	a) Potentialdifferenz	b) Sekundärkontraktur
Bienen- Nativgift	1:4o ooo - 1:8o ooo	1:4o ooo
Gereinigtes Bienengift	1:16o ooo	1:8o ooo
Bienengift- Fraktion I	weniger als 1:16o ooo	1:8o ooo
Naja tripudians- Gift	1:8o ooo - 1:16o ooo	1:8o ooo - 1:16o ooo
Naja haje- Gift	1:16o ooo - 1:32o ooo	1:8o ooo
Naja nigricollis- Gift	1:16o ooo - 1:32o ooo	1:8o ooo
Crotalus terrificus- Gift	1:5 ooo	1:2 5oo - 1:5 ooo
Vipera ammodytes- Gift	1:5 ooo - 1:1o ooo	ohne Effekt bis 1:2 5oo
Lysocithin	zw.1:1o ooo u.1:2o ooo	1:5 ooo - 1:1o ooo
Histamin	ohne Effekt bis 1:1ooo	ohne Effekt bis 1:1ooo
Dinitrophenol	1:1o ooo - 1:2o ooo	1:2 ooo - 1:5 ooo
Digitonin	um 1:16o ooo	1:16o ooo

3.) In vivo- Versuche.

a) Einfluss der Urethan- Narkose auf das Membranpotential. (Tab. 2o)

Bei lebenden Tieren sollte zunächst der Einfluss einer Urethan- Narkose auf das Membranpotential untersucht werden. Vor allem war festzustellen:
1.) wie hoch das Membranpotential unter Narkoseeinfluss ist,
2.) ob bei ein und demselben Tier bei verschieden langer Narkosedauer eine stärkere Differenz zwischen rechtem und linkem Sartorius auftritt, und
3.) ob eine zentrale Atemlähmung einen größeren Potentialunterschied zur Folge hat.

Wir nahmen männliche und weibliche Tiere im Gewicht von 33,5 - 44,5 g. In den meisten Fällen wurden die Muskeln durch Hautschnitt entfernt und

die immer blutende Wunde durch Naht versorgt. Nur bei gleichzeitiger Präparation beider Sartorien nach bestimmter Narkosedauer töteten wir die Tiere durch Dekapitation.

Bei einigen Fröschen wurde das Verletzungspotential nach einer Narkosedauer von 6o bzw. 12o Minuten an beiden Sartorien sofort hintereinander gemessen. Bei anderen Versuchen wurde der erste Muskel durch Hautschnitt 4o - 6o Minuten früher entfernt und sein Potential bestimmt. Weiterhin wurden einige Sartorien kurz nach dem Einsetzen der allgemeinen Lähmung - aber vor dem Eintritt der Atemlähmung - untersucht, während der Kontrollmuskel erst 15 - 3o Minuten nach dem Aussetzen der sichtbaren Atmung herausgenommen wurde. Bei den Hautschnitten zeigten die Tiere wechselnde Abwehrreflexe.

Als Ergebnisse konnten wir feststellen:

1.) Die Urethan- Narkose hatte bei unseren Versuchen keinen Einfluss auf die Höhe des Membranpotentials. Der Durchschnittswert des frischen Verletzungspotentials entsprach mit 55,1 mV dem der ersten Versuchsreihe.
2.) Auch bei verschieden langer Narkoseeinwirkung auf die beiden Sartorien eines Frosches war nur eine der individuellen Schwankungsbreite entsprechende Abweichung des Membranpotentials zwischen rechtem und linkem Muskel festzustellen. Sie betrug 3,8 mV, was wiederum nahezu mit unseren anderen Werten übereinstimmt.
3.) Nach unseren Beobachtungen war auch eine Atemlähmung des Tieres (o,o5 ccm 1o %iges Urethan / g Frosch) ohne Wirkung auf das Membranpotential. Dies ist wohl dadurch zu erklären, dass eine genügende Sauerstoffversorgung des Frosches - auch bei zentraler Atemlähmung - noch durch die Hautatmung gewahrleistet wird.
4.) Herztätigkeit und Blutfarbe waren bei den Narkoseversuchen nicht beeinträchtigt.

Bei den Versuchen mit gereinigtem Bienengift und Naja nigricollis-Gift verwendeten wir Tiere beiderlei Geschlechts von 32,5 - 6o g. Die Gifte wurden in physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Alle Muskeln wurden durch Hautschnitt präpariert.

b) Versuche mit gereinigtem Bienengift. (Tab. 21)

Zwei Tieren spritzten wir 5o γ / g ohne vorhergehende Narkose. Nach 12o Minuten entnahmen wir alle Sartorien gleichzeitig. Sie zeigten eine dem Durchschnitt entsprechende Höhe des Verletzungspotentials und keine grössere Differenz zwischen rechtem und linkem Muskel.

Bei Urethan- Narkose mit Injektion von 5o γ / g ergab sich nach 2o Minuten eine Differenz des Verletzungspotentials von 7,5 mV zwischen vorher entnommenem Kontroll- und giftbehandeltem Muskel. 5 Minuten nach der Injektion des Giftes erfolgte eine Lähmung der Lungenatmung. Das Tier zeigte eine starke Hypoxaemie und war bradycard.

Alle folgenden Versuche wurden nach einheitlichen Vorbedingungen durchgeführt: 2o Minuten nach Injektion von o,o37 ccm 1o %igem Urethan / g wurde der erste Muskel präpariert. 3o Minuten nach der Urethan- Injektion erfolgte die des Giftes, welches 6o Minuten auf das Tier einwirkte.

1oo γ / g gereinigtes Bienengift liess auf diese Weise nur geringe Unterschiede des Verletzungspotentials zwischen Normal- und Giftmuskel erkennen (4,5 bzw. 5 mV). Bei beiden Tieren setzte die Atemlähmung schon während der Narkose ein. Das erste Tier begann 35 Minuten nach Injektion des Giftes wieder langsam und unregelmässig mit einzelnen tiefen Zügen zu atmen. Bei dem anderen Frosch setzten beim zweiten Hautschnitt plötzlich unregelmässige, tiefe Atemzüge ein. Das Tier war hypoxaemisch und bradycard.

c) Versuche mit Naja nigricollis- Gift. (Tab. 22)

Naja nigricollis- Gift hatte bei 1o γ / g keine Wirkung auf das Membranpotential, rief jedoch Bradycardie hervor. Eine Atemlähmung trat bei dem ersten Tier 4 Minuten nach der Giftinjektion auf und hielt etwa 5o Minuten an. Kurz vor dem zweiten Hautschnitt setzten wieder unregelmässige, tiefe Atemzüge ein. Beim anderen Tier erfolgte die Atemlähmung schon während der Narkose und blieb bis zum Ende des Versuchs bestehen.

25 γ / g verursachten bei einem der Tiere eine Differenz des Verletzungspotentials von 9,5 mV und riefen nach der Injektion Krämpfe

am ganzen Körper hervor. Der zweite Frosch liess bis auf eine gewisse Hypoxaemie keine Wirkung erkennen. Das erste Tier zeigte nach Injektion des Giftes zunächst oberflächliche und unregelmässige Atemexkursionen, später einzelne, tiefe Atemzüge. Beim zweiten Frosch wurde die Atmung nach der Giftgabe ebenfalls oberflächlich, verschwand dann, um später mit seltenen, tiefen Zügen wieder einzusetzen.

5o γ / g waren deutlich wirksam. Beide Tiere krampften kurze Zeit nach der Injektion des Giftes, das Membranpotential des vergifteten Muskels lag jeweils 14,5 mV unter dem des vorher entnommenen Sartorius; ausserdem konnte eine geringe Hypoxaemie beobachtet werden. Weiterhin rief das Gift bei beiden Fröschen 3 Minuten nach der Injektion eine bleibende Atemlähmung hervor.

Nebenbeobachtungen:

Bei Anwendung von 1oo γ / g gereinigtem Bienengift sowie bei allen Versuchen mit Naja nigricollis- Gift blutete der zweite Hautschnitt auffallend wenig oder gar nicht (Gefässkonstriktion?).

Während bei den narkotisierten Fröschen beim ersten Hautschnitt keine Reflexe auftraten, zeigten die Tiere beim zweiten Hautschnitt, also gewöhnlich 6o Minuten nach der Giftinjektion, schwache Abwehrreflexe. Diese fehlten jedoch bei einem Versuch 5o γ / g mit gereinigtem Bienengift sowie bei der höchsten verwendeten Konzentration des Naja nigricollis- Giftes.

4.) Phosphataustritt aus dem isolierten Frosch- Sartorius.

In Anlehnung an Versuche von KELLAWAY, HOUSSAY und MAZZOCCO untersuchten wir die permeabilitätserhöhende Wirkung von Bienen- und Schlangengift auch in Bezug auf den Phosphataustritt aus dem isolierten Froschmuskel. HOUSSAY und MAZZOCCO beobachteten, dass unter der Einwirkung von Naja tripudians- Gift das anorganische Phosphat in der den Muskel umgebenden Ringerlösung ansteigt. In unseren Versuchen konnten wir dies bestätigen. Wir bestimmten jedoch nicht nur das in die phosphatfreie Gift- Ringerlösung diffundierte anorganische Phosphat, sondern gleichzeitig auch den anorganischen und organischen Phosphatgehalt des Muskelextraktes.

a) Versuche ohne Gifteinwirkung.

In mehreren orientierenden Versuchen (Tab. 23) sollte zunächst das anorganische Phosphat des Trichloressigsäure- Filtrats der beiden Sartorien eines Frosches und weiterhin das verschiedener Frösche untereinander verglichen werden. Die grösste Schwankung zwischen rechtem und linkem Sartorius betrug 11,6 %. In den anderen Fällen lagen die Vergleichswerte bedeutend näher zusammen. Die Differenz zwischen verschiedenen Tieren war grösser. Der höchste erhaltene Wert betrug o,92 γ P/mg Muskel, der niedrigste o,73 γ P/mg Muskel. Die meisten Werte lagen um o,85 γ P/mg Muskel.

Bei einer anderen Versuchsreihe (Tab. 24) legten wir die Muskeln zunächst 3o Minuten in Ringerlösung, um das spontan, d.h. ohne Gifteinwirkung austretende Phosphat zu bestimmen. Hieran anschliessend stellten wir sofort das Trichloressigsäure- Filtrat her und untersuchten es auf seinen Gehalt an anorganischem und organischem Phosphat. Die spontan in die Ringerlösung gelangte anorganische Phosphatmenge war gering; sie lag immer unter o,1 γ P/mg Muskel. Die Werte zwischen rechtem und linkem Sartorius sowie die zwischen den einzelnen Tieren schwankten etwas, lagen aber in der gleichen Grössenordnung. Das anorganische Phosphat im Trichloressigsäure- Filtrat zeigte bei ein und demselben Tier jeweils nur wenig differierende, bei verschiedenen Fröschen untereinander etwas stärker abweichende Werte. Relativ gross waren die Streuungen im Bereich des organischen Phosphats. Bei einem Tier betrug der organische Phosphatgehalt des einen Muskels nur 53,3 % des anderen, in zwei weiteren Fällen war der Unschied geringer, bei einem vierten Frosch stimmten die beiden Werte völlig überein. Auffallend war, dass trotz der mehr oder weniger streuenden Einzelwerte die Gesamtphosphatmenge / mg Muskel zwischen rechtem und linkem Sartorius fast in allen Fällen gut übereinstimmte. Die Differenz betrug höchstens 8,2 %. Zwischen den einzelnen Fröschen war der Unterschied jedoch gross. Die Extremwerte des Gesamtphosphats lagen bei 1,56 γ P/mg Muskel bzw. bei o,984 γ P/mg Muskel. Die übrigen Werte lagen um 1,2o γ P/mg Muskel.

Die Streuungen können teilweise vielleicht auf den verschiedenen Ernährungszustand der Frösche sowie auf den verschiedenen Blutgehalt der Muskeln zurückgeführt werden.

Das Filtrieren hatte, wie wir in vergleichenden Versuchen mit Ringerlösung, die teils unfiltriert, teils filtriert verwendet wurde, keinen Einfluss auf den Phosphatgehalt.

b) Versuche unter Zusatz von Bienen- und Schlangengift.

Die folgenden Versuche sollten den Einfluss von gereinigtem Bienengift, Bienengift- Fraktion I und Naja haje- Gift auf den Phosphataustritt feststellen. Die genannten Gifte wurden jeweils 1:5 ooo und 1:5o ooo in Ringer gelöst und die Muskeln 3o Minuten der Gifteinwirkung ausgesetzt. Die Vergleichsmuskeln der anderen Seite lagen während der gleichen Zeitdauer in Ringerlösung ohne Giftzusatz.

Alle Gift- Ringerlösungen, sowohl mit Bienen- als auch mit Naja haje- Gift, zeigten nach Herausnahme der Muskeln bei Zugabe von 1 ccm 3o %iger Trichloressigsäure eine mehr oder weniger starke Trübung bzw. Opaleszenz und flockige Niederschläge, die wohl koaguliertes Eiweiss darstellen dürften. Um bei der Messung der Extinktionswerte keine Fehlerquelle zu erhalten, filtrierten wir diese Lösungen, bevor wir sie weiter verwendeten.

Gereinigtes Bienengift (Tab. 25) in der Verdünnung 1:5 ooo zeigte eine stark permeabilitätserhöhende Wirkung. Das in die Gift- Ringerlösung diffundierte anorganische Phosphat betrug etwa das 8 - fache der Kontrolle. Im Trichloressigsäure- Filtrat fanden sich im Vergleich zum nicht vergifteten Muskel an anorganischem Phosphat nur 2/3, an organischem etwa 5/7. Das Gesamtphosphat / mg Muskel differierte kaum.

In der Konzentration 1:5o ooo wirkte das gereinigte Bienengift erwartungsgemäss schwächer. Der Phosphatgehalt der Gift- Ringerlösung war ungefähr 3 mal grösser als der der Kontrolle. Das anorganische Phosphat des Trichloressigsäure- Filtrats betrug 9/1o des Vergleichsmuskels, das organische war bei beiden Sartorien gleich. Die Streuung des Gesamtphosphats / mg Muskel lag bei 7,3 %.

Bienengift- Fraktion I (Tab. 26) war etwas weniger wirksam als das gereinigte Gift. Bei der Konzentration 1:5 ooo betrug das anorganische Phosphat in der Gift- Ringerlösung im Verhältnis zur Kontrolle das 3 1/2 - fache. Das Trichloressigsäure- Filtrat des vergifteten Sartorius enthielt an anorganischem Phosphat 3/4, an organischem 2/3 von dem des Kontrollmuskels. Das Gesamtphosphat / mg Muskel schwankte um etwa 1o %.

Bei der Verdünnung 1:5o ooo war der permeabilitätserhöhende Effekt auf den Phosphataustritt nur angedeutet. Der Phosphatgehalt erreichte in der Gift- Ringerlösung das 1 1/2 - fache der Vergleichs-

lösung. Letztere zeigte aber auch einen verhältnismässig sehr hohen Phosphatwert. Beim Trichloressigsäure- Filtrat dürften die erhaltenen Differenzen für das anorganische und das organisch gebundene Phosphat der beiden Muskeln in den Bereich der Fehlergrenze fallen. Die Gesamtphosphatwerte / mg Muskel waren gleich.

Naja haje- Gift (Tab. 27) zeigte eine dem gereinigten Bienengift entsprechende Wirkung. Das in die Gift- Ringerlösung 1:5 ooo diffundierte anorganische Phosphat betrug das 7 1/2 - fache der Vergleichslösung. Im Trichloressigsäure- Filtrat waren im Vergleich zur Kontrolle an anorganischem Phosphat nur 6/1o, an organischem 5/7 nachzuweisen. Das Gesamtphosphat / mg Muskel differierte kaum.

Bei der Konzentration 1:5o ooo betrug der Phosphatgehalt der Gift- Ringerlösung das 2 1/2 - fache der Kontrolle. Das Trichloressigsäure- Filtrat des vergifteten Sartorius enthielt an anorganischem Phosphat 9/1o des Vergleichsmuskels. Das organisch gebundene Phosphat beider Muskeln war gleich. Die Differenz der Gesamtphosphatmenge betrug 4,1 %.

C.) Besprechung

In vorliegender Arbeit interessierte uns vor allem der Zusammenhang zwischen den beiden hauptsächlichen, durch tierische Gifte auslösbaren Reaktionen des Skelettmuskels: der Durchlässigkeitssteigerung (gemessen am Abfall des Membranpotentials) und der Kontraktur. Weiterhin wurde bei in vivo- Versuchen am Frosch - neben der Beobachtung allgemeiner Vergiftungssymptome - das Verhalten des Membranpotentials unter Narkoseeinfluss sowie bei Injektion subletaler Dosen von Bienen- und Colubridengift untersucht. Die Permeabilitätserhöhung unter dem Einfluss der genannten Gifte konnte auch in Bezug auf den Phosphataustritt aus dem isolierten Froschmuskel bestätigt werden.

In Übereinstimmung mit Versuchen von HABERMANN und NEUMANN, RÖTHEL, SCHLÖGL und LAMPARTER ist die muskelwirksame Komponente des Bienengifts in Fraktion I zu sehen. Diese wirkt auf den isolierten Froschsartorius stark depolarisierend und kontrakturerzeugend. Gereinigtes Bienengift beeinflusst den Abfall des Membranpotentials und die Längenabnahme des Muskels etwa in gleicher Stärke wie Fraktion I, während das native Gift schwächere Effekte zeigt. Nach FLECKENSTEIN

und Mitarbeitern ist eine Kontrakturerzeugung an den Austritt von Kalium aus der Skelettmuskelfaser gebunden. In parallellaufenden Versuchen konnte HABERMANN am isolierten Froschgastrocnemius unter dem Einfluss von Bienen- Nativgift und Fraktion I tatsächlich eine verstärkte Kaliumfreisetzung feststellen. Die Schwellenkonzentrationen für den Kaliumaustritt lagen mit 1:2o ooo (Nativgift) bzw. 1:2o ooo - 1:4o ooo (Fraktion I) jedoch deutlich über den von uns für Potentialerniedrigung und Kontraktur gefundenen Werten. Vielleicht lässt die von HABERMANN beobachtete starke Streuung der Kaliumwerte bis zu einem gewissen Grad diesen Unterschied erklären; vielleicht hatten wir aber - was auch ROTHSCHUH in Bezug auf morphologische Veränderungen der Muskelfaser beschrieb - durch die Beobachtung der elektrischen Vorgänge einen feineren Indikator für die an der Muskelfaser sich abspielenden Veränderungen. Der Histaminanteil des Bienengifts hat keineh Effekt auf Membranpotential und Länge des Muskels, denn Histamindihydrochlorid war selbst in hohen Konzentrationen unwirksam. Zu dem gleichen Ergebnis kam in Bezug auf die Muskelquellung auch LAMPARTER. Lysocithin hatte nur in relativ hohen Dosen einen verstärkten Potentialabfall sowie Kontrakturen zur Folge. Die Schwellenkonzentrationen für Potentialerniedrigung, Kontraktur und Kaliumaustritt differieren hier weniger als beim Bienengift.

Die Kontrakturwirkung von Schlangengiften wurde u.a. von HOUSSAY und MAZZOCCO, FLECKENSTEIN und Mitarbeitern, HABERMANN und NEUMANN, HOFMANN, RÖTHEL und SCHLÖGL beschrieben. Auch fibrilläre Zuckungen wurden von ihnen beobachtet. Unsere Ergebnisse zeigen, dass die Colubridengifte (Naja tripudians, Naja haje, Naja nigricollis) sehr stark depolarisierend und kontrakturerzeugend wirkten, während die verwendeten Viperidengifte (Crotalus terrificus, Vipera ammodytes) selbst in hohen Konz ntrationen nur geringe Wirkung zeigten. Die Grenzkonzentrationen stimmen mit den von HABERMANN für den Kaliumaustritt gefundenen gut überein. Dasselbe gilt auch für das in jeder Beziehung (Potentialabfall, Kontraktur, Kaliumfreisetzung) stark muskelwirksame Digitonin. Wir konnten bei den untersuchten Substanzen folgende Wirkungsreihe aufstellen: Colubridengifte > Digitonin > Fraktion I, gereinigtes Bienengift > Bienen- Nativgift > Lysocithin > Viperidengifte. Dem Abfall des Membranpotentials, der Muskelkontraktion und der Permeabilitätserhöhung dürfte wohl eine gemeinsame Ursache zugrundeliegen. Jedoch unterscheidet sich wohl das auslösende Agens von Gift zu Gift. Im Falle des Bienengifts handelt es sich im wesentlichen um Fraktion I. Lysocithin, Hyaluronidase und Histamin spielen

keine Rolle, ebensowenig die in Fraktion II nachgewiesene Phospholipase. Sonst müsste ja das phospholipase- und hyaluronidasereiche Bienen- Nativgift viel stärker wirken als Fraktion I und die Viperidengifte stärker als die Colubridengifte. Da Fraktion I von Bienengift neuromuskulären und ganglionären Block (beides nach vorhergehender Erregung) sowie fibrilläre Zuckungen hervorruft, wurde von einem "dekamethoniumartigen Wirkungscharakter" dieser stark basischen Substanz gesprochen (HABERMANN). Auch die von uns beobachtete Depolarisation würde dazu passen.

Tierische Gifte hemmen die oxydative Phosphorylierung (HABERMANN). Es ergab sich nun die Frage, ob die durch Bienen- und Schlangengift hervorgerufenen Kontrakturen vielleicht auf eine Phosphorylierungshemmung zurückzuführen sind. Nach BAYER werden jedoch Phosphorylierungsprozesse, nach KLEINE die aerobe Glykolyse des Muskels durch Bienengift nicht wesentlich beeinflusst. Unsere Versuche mit Dinitrophenol, dessen entkoppelnde Wirkung bekannt ist, ergaben einen eigenartigen Befund, der zu zahlreichen Theorien der Muskelkontraktion in Widerspruch steht: es kam zu einem starken Abfall des Membranpotentials ohne begleitende Kontraktur. Daraus ist zu schliessen, dass die Kontrakturen unter dem Einfluss tierischer Gifte nicht durch Phosphorylierungshemmung bedingt sind. Weiterhin zeigen sie, dass offenbar kein strenger Zusammenhang zwischen Membranladung und Muskellänge besteht. Dies steht nur bis zu einem gewissen Grad im Gegensatz zu Befunden von FLECKENSTEIN und Mitarbeitern, die, allerdings am Froschrectus und unter dem Einfluss anderer depolarisierender Substanzen, eine lineare Abhängigkeit zwischen Muskellänge und Höhe des Membranpotentials beobachteten. Schädigungskontrakturen, um die es sich bei unseren Versuchen handelt, sind ja von dieser Proportionalität ausgenommen.

Durchlässigkeitssteigerung und Kontraktur sind eng verknüpft. Ohne Potentialerniedrigung tritt nach unseren Versuchen keine Kontraktur durch tierische Gifte ein. Jedoch können auch ohne Kontraktur erhebliche Potentialabfälle gemessen werden. Das einfachste Beispiel hierfür ist der spontane Potentialabfall in Phosphat- Ringerlösung, ein anderes ist das Verhalten gegenüber Dinitrophenol. Möglicherweise spielt die Geschwindigkeit, mit der eine Potentialänderung eintritt, eine wesentliche Rolle für die Auslösung einer Kontraktur.

In vivo- Versuche zeigten, dass das Membranpotential von Froschsartorien durch eine Urethan- Narkose nicht beeinträchtigt wird,

selbst wenn diese bis zum Atemstillstand führt. Nachfolgende Injektion von gereinigtem Bienengift (bis zu 100 γ/g) bzw. Naja nigricollis- Gift (bis zu 25 γ/g) hatte auf das Membranpotential keine eindeutige Wirkung. Die Potentialdifferenzen zwischen Normal- und Giftmuskel lagen - bis auf eine Ausnahme - innerhalb der 2 6 - Grenze. Vielleicht fand ein geringer Potentialabfall statt, doch dann war er deutlich geringer als am isolierten Muskel. Schon RIESSER weist darauf hin, dass bei Durchströmung oft qualitativ und quantitativ andere Befunde erhoben werden als bei Gifteinwirkung von aussen. Naja nigricollis- Gift (50 γ/g) führte zu einem deutlichen Potentialabfall der vergifteten Muskeln. Die Frage, ob hier zwischen den aufgetretenen Krämpfen und der Potentialerniedrigung ein Zusammenhang besteht, bleibt offen. Interessant ist vielleicht ein Vergleich mit der intravenös injizierten Letaldosis der gleichen Charge des Nigricollisgiftes bei weissen Mäusen: sie betrug 1 γ/g (HABERMANN), lag also weit unter den von uns verwendeten subletalen Dosen für Frösche. Beim Bienengift könnten besondere Resorptionsverhältnisse und Inaktivierung des Giftes durch gewebseigene Stoffe den negativen Befund bedingen (HOFMANN, ANDRYSEK, SPÄTH).

Alle injizierten Giftdosen, sowohl von Bienen als auch von Naja nigricollis, liessen Nebenwirkungen auf die Tiere erkennen. Auffällig waren Atemlähmung, Gefässkonstriktion, Bradycardie, Hypoxaemie, Auskühlung, Krämpfe und Reflexlähmungen. Unregelmässige, verlangsamte Atmung, Krämpfe, Auskühlung und "curareartige" Bilder bei Bienen- und Schlangengiftgaben wurden an unserem Institut auch von WLOSCZYK beobachtet, Gefässkonstriktion von RÖTHEL und hypoxaemische Erscheinungen an weissen Mäusen von HABERMANN.

Die permeabilitätserhöhende Wirkung von Bienen- und Colubridengift (Naja haje) zeigte sich auch an dem verstärkten Phosphataustritt aus dem isolierten Froschmuskel. Während HOUSSAY und MAZZOCCO lediglich einen Anstieg des anorganischen Phosphats in der umgebenden Flüssigkeit unter dem Einfluss von Naja tripudians- Gift u.a. beobachteten, konnten wir ausserdem noch die diesem Wert entsprechende Verarmung des Muskels an organischem und besonders an anorganischem Phosphat nachweisen. Gereinigtes Bienengift und Naja haje- Gift wirkten stärker durchlässigkeitssteigernd als Fraktion I. Möglicherweise sind also, ähnlich wie beim Erythrocyten (HABERMANN),Giftenzyme am Mechanismus der Permeabilitätssteigerung beteiligt.

D.) Zusammenfassung

1.) Bienengift ruft, im wesentlichen durch seinen Gehalt an Fraktion I, am isolierten Froschsartorius einen Abfall des Membranpotentials sowie Kontraktur hervor. Colubridengifte (Naja tripudians, Naja haje, Naja nigricollis) sind etwas stärker wirksam als Bienengift, Viperidengifte (Crotalus terrificus, Vipera ammodytes) dagegen deutlich schwächer. Histamin zeigt keine Wirkung auf den Skelettmuskel, Lysocithin und Dinitrophenol nur in vergleichsweise hohen Konzentrationen. Digitonin steht mit seiner Wirksamkeit zwischen Colubridengiften und Fraktion I.

Es besteht ein Zusammenhang, aber keine lineare Abhängigkeit zwischen der Verkürzung des Muskels und dem Abfall des Membranpotentials. Eine Kontraktur ist nur bei gleichzeitigem erheblichem Potentialabfall nachzuweisen, während letzterer auch ohne begleitende Muskelverkürzung auftreten kann, wie insbesondere Versuche mit Dinitrophenol ergaben.

2.) Am mit Urethan narkotisierten Frosch ist ein Potentialabfall des Sartorius nur nach Naja nigricollis- Gift (50 γ/g) eindeutig, nicht dagegen bei gereinigtem Bienengift (bis 100 γ/g). Die Urethan-Narkose selbst hat auf das Verletzungspotential keinen Einfluss.

3.) Unter Bienen- und Naja haje- Gift verarmt der isolierte Froschmuskel sowohl an organischem als auch - und zwar stärker - an anorganischem Phosphat, welches in der Ringerlösung in entsprechendem Masse ansteigt. Ob das indirekt bestimmte, d.h. das organisch gebundene Phosphat durch Abbau oder durch Diffusion aus dem Muskel verschwindet, liess sich nicht feststellen. Gereinigtes Bienengift wirkte etwa gleichstark wie Naja haje- Gift, aber deutlich stärker als Fraktion I von Bienengift.

Membranpotential- und Längenänderung des Frosch- Sartorius unter dem Einfluss von

Tabelle	Versuchs-nummer	Substanz		Potent. vorher in mV	Potent. nachher in mV	%aler Potent. wert n.15'	Potent. diff. n.15' =P	Länge vorher in mm	Primär-kontr. in mm	Sekund. kontr. n. 15' in mm	%uale Längen-änder. n.15'=L	L/P
Tabelle 1	1a	Phosphat-Ringer	pH 6,6	63	52,5	83,4		31				
	b		pH 7,1	61	50,5	82,9	0,5	30	/	/	/	0,00
	2a		pH 6,6	58,5	42,5	72,7		29				
	b		pH 7,1	60	41	68,4	4,3	29	1,86	/	/	0,00
Tabelle 2	3a	Phosphat-Ringer belast.	3,39g	51,5	40	77,7		29				
	b		1,39g	54	40	74,2	3,5	29	0,88	/	/	0,00
	4a		3,39g	54,5	42	77,2		31				
	b		1,39g	50,5	34	67,4	9.8	30	1,62	1,0	3,33	0,34
	5a		3,39g	62	42	67,8		28				
	b		1,39g	56,5	40	70,8	(3,0)	29	/	/	/	0,00
Tabelle 3	6a	Phosphat-Ringer Luft	keine	57	34	59,5		30				
	b		+++	56,5	19,5	34,5	25,2	30				
	7a		keine	42,5	29,5	69,5		28				
	b		++	55,5	44	79,4	(9,9)	30				
	8a		keine	60	41,5	69,2		29				
	b		++	65.5	40	61,2	8,0	28				
	9a		keine	58	40,5	69,9		31				
	b		++	60	30	50,0	19,9	31				
	10a		keine	40	29	72,5		25				
	b		+	44,5	32,5	73,0	(0,5)	27				

Luft +++ = starke Luftdurchperlung
Luft ++ = mittlere Luftdurchperlung
Luft + = schwache Luftdurchperlung

Membranpotential- und Längenänderung des Frosch- Sartorius unter dem Einfluss von

Tabelle	Versuchs-nummer	Substanz	Potential vorher in mV	Potential in mV nach ... Min.	Potential in Prozenten des Ausgangswertes	Länge vorher in mm
Tabelle 4	11a	Phosphat-Ringer	50	32,3 mV nach 15 Min.	64,7 %	27
				27,3 30	54,6	
				25,7 45	51,5	
				27 60	54,0	
	b	Ringer	49	35 mV nach 15 Min.	71,5 %	24
				24,3 30	49,7	
				23 45	47,0	
				21 60	42,9	
	12a	Phosphat-Ringer	51	34,7 mV nach 15 Min.	68,1 %	28
				28,3 30	55,5	
				33,3 45	65,4	
				27,3 60	53,6	
				25 90	49,0	
				16,3 150	32,0	
	b	Ringer	54,7	31,3 mV nach 15 Min.	57,3 %	26
				27 30	49,3	
				28,7 45	52,5	
				27 60	49,3	
				24 90	43,9	
				17,3 150	31,6	
	13a	Phosphat-Ringer	45,3	25,7 mV nach 240 Min.	56,7 %	?
	b	Ringer	49,7	19,3 240	38,8 %	?

Membranpotential- und Längenänderung des Frosch- Sartorius unter dem Einfluss von

Tabelle	Versuchs-nummer	Substanz	Giftkonzentration	Potential vorher in mV	Potential nachher in mV	%ualer Potential-wert n.15'	Potential-differenz nach 15'=P	Länge vorher in mm
Tabelle 5	14a	Gereinigtes	0 (Kontr.)	50	39,5	79,5		28
	b		1: 10 000	40,3	7	17,3	62,2	27
	15a	Bienengift	0 (Kontr.)	46	31,7	69,0		24
	b		1: 20 000	53,3	17,3	32,4	36,6	25
	16a		0 (Kontr.)	41	29,7	72,5		25
	b		1: 40 000	43	16,3	37,9	34,6	24
	17a		0 (Kontr.)	47,7	31	65,0		24
	b		1: 80 000	56,7	20,3	35,8	29,2	24
	18a		0 (Kontr.)	62,3	41,3	66,4		26
	b		1:160 000	57,3	37	64,6	1,8	28
	19a	Bienengift-Fraktion I	0 (Kontr.)	45,7	45,3	99,2		27
	b		1: 10 000	45,3	17	37,5	61,7	29
	20a		0 (Kontr.)	63,3	45,7	72,3		27
	b		1: 20 000	41	26	63,5	8,8	28
	21a		0 (Kontr.)	67,3	43	64,0		25
	b		1: 40 000	47,7	19,3	40,5	23,5	26
	22a		0 (Kontr.)	57,7	34	64,5		29
	b		1: 80 000	58,7	29	49,4	15,1	29
	23a		0 (Kontr.)	37,7	22	58,4		26
	b		1:160 000	52	30,7	59,1	(0,7)	25
	24a	Ger. Bienengift	0 (Kontr.)	55,7	38	78,3		29
	b		1: 80 000	61	30,7	50,3	28,0	29
	25a	Fraktion I	0 (Kontr.)	53	44,3	83,7		26
	b		1: 80 000	50,7	31,3	61,8	21,9	29
	26a	Ger. Bienengift	0 (Kontr.)	48	39,3	82,0		31
	b		1:160 000	51,3	38	74,1	7,9	31
	27a	Fraktion I	0 (Kontr.)	52,3	44	84,2		30
	b		1:160 000	68	53,5	78,5	5,7	28

Membranpotential- und Längenänderung des Frosch- Sartorius unter dem Einfluss von

Tabelle	Versuchs-nummer	Substanz	Giftkonzentration	Potent. vorher in mV	Potent. nachher in mV	%ualer Potent. wert n.15'	Potent. diff. n.15' =P	Länge vorher in mm	Primär-kontr. in mm	Sekund. kontr. n.15' in mm	%uale Längen-änder. n.15'=L	L/P
Tabelle 6	28a	Bienen-Nativ-Gift	0 (Kontr.)	60	44	73,4		29				
	b		1: 10 000	59	22	37,9	35,5	30				
	29a		0 (Kontr.)	59	43	73,0		30				
	b		1: 20 000	42	20,5	48,8	24,2	30				
	30a		0 (Kontr.)	54	39	72,2		26				
	b		1: 20 000	60	33	55,0	17,2	27	1,10	1,80	6,66	0,38
	31a		0 (Kontr.)	57	33	57,9		24				
	b		1: 20 000	52	27	51,9	6,0	27	3,44	3,11	11,50	1,91
	32a		0 (Kontr.)	59	40	67,8		28				
	b		1: 40 000	57	37	65,0	2,8	28	4,80	1,37	5,97	2,13
	33a		0 (Kontr.)	56	48	85,7		27				
	b		1: 80 000	53,5	37	69,2	16,5	27	0,38	/	/	0,00
Tabelle 7	34a	Gereinigtes Bienengift	0 (Kontr.)	63	45	71,5		28				
	b		1: 20 000	59	26,5	44,9	26,6	28	9,84	5,60	20,00	0,75
	35a		0 (Kontr.)	63,5	49,5	78,0		28				
	b		1: 40 000	56	29	51,8	26,2	27	7,32	2,19	8,12	0,31
	36a		0 (Kontr.)	61	40,5	66,5		27				
	b		1: 80 000	63	29,5	46,9	19,6	27	1,62	0,67	2,48	0,12
	37a		0 (Kontr.)	57,5	40	69,7		27				
	b		1:160 000	53,5	31	58,0	11,7	26	/	/	/	0,00
	38a		0 (Kontr.)	60,5	41,5	68,6		29				
	b		1:320 000	57,5	41,5	72,2	(3,6)	28	0,67	/	/	0,00
Tabelle 8	39a	Bienengift-Fraktion I	0 (Kontr.)	58	39	67,3		31				
	b		1: 20 000	57	25	43,8	23,5	32	9,93	3,68	11,50	0,49
	40a		0 (Kontr.)	53	36	67,9		28				
	b		1: 40 000	56	24	42,8	25,1	29	4,53	2,11	7,29	0,29
	41a		0 (Kontr.)	50	39	78,0		30				
	b		1: 80 000	54	29	53,7	24,3	32	2,70	0,55	1,72	0,07
	42a		0 (Kontr.)	50	36,5	73,0		30		/		
	b		1:160 000	52	31	59,6	13,4	30	1,92		/	0,00

Membranpotential- und Längenänderung des Frosch- Sartorius unter dem Einfluss von

Tabelle	Versuchs-nummer	Substanz	Giftkonzentration	Potent. vorher in mV	Potent. nachher in mV	%ualer Potent. wert n.15'	Potent. diff. n.15' =P	Länge vorher in mm	Primär-kontr. in mm	Sekund. kontr. n.15' in mm	%uale Längenänder. n.15'=L	L/P
Tabelle 9	43a	Naja tripudians-Gift	0 (Kontr.)	53	33	62,3		28				
	b		1: 10 000	51	19	37,2	25,1	28	1,76	2,97	10,60	0,42
	44a		0 (Kontr.)	52	31	59,6		28				
	b		1: 20 000	53	20	37,7	21,9	28	1,22	3,38	12,09	0,55
	45a		0 (Kontr.)	51	39	76,5		25				
	b		1: 40 000	55	21	38,2	38,3	27	1,24	1,00	3,70	0,13
	46a		0 (Kontr.)	56	41	73,2		32				
	b		1: 80 000	55	31	56,4	16,8	31	1,70	/	/	0,00
	47a		0 (Kontr.)	51	33	64,7		30				
	b		1:160 000	49	30,5	62,3	2,4	28	0,61	0,24	0,86	0,35
Tabelle10	48a	Naja haje-Gift	0 (Kontr.)	64,5	38	59,0		30				
	b		1: 10 000	53	14,5	27,4	31,6	30	2,90	7,70	25,60	0,81
	49a		0 (Kontr.)	63	39,5	62,7		31				
	b		1: 20 000	60,5	20	33,0	29,7	29	2,16	2,68	9,26	0,31
	50a		0 (Kontr.)	58	46	79,4		31				
	b		1: 40 000	50	19	38,0	41,4	27	0,94	3,04	11,25	0,27
	51a		0 (Kontr.)	51,5	34,5	67,0		29				
	b		1: 80 000	52	24	46,1	20,9	28	0,34	0,27	0,96	0,04
	52a		0 (Kontr.)	60	41	68,4		28				
	b		1:160 000	66	37	56,1	12,3	28	0,10	/	/	0,00
	53a		0 (Kontr.)	50,5	33	65,4		26				
	b		1:320 000	58,5	36,5	62,5	2,9	28	0,38	/	/	0,00
Tabelle11	54a	Naja nigricollis-Gift	0 (Kontr.)	54	37,5	69,6		27				
	b		1: 10 000	57	18,5	32,4	37,2	27	2,86	3,14	11,62	0,31
	55a		0 (Kontr.)	53,5	36,5	68,3		29				
	b		1: 20 000	58,5	23,5	40,2	28,1	29	1,62	1,28	4,41	0,15
	56a		0 (Kontr.)	56	37	66,1		30				
	b		1: 40 000	59,5	28	47,0	19,1	29	0,34	0,50	1,72	0,09
	57a		0 (Kontr.)	64	40	62,5		31				
	b		1: 80 000	60,5	28,5	46,3	16,2	30	1,10	1,01	3,36	0,20
	58a		0 (Kontr.)	61	40,5	66,4		31				
	b		1:160 000	57,5	34	59,2	7,2	30	1,48	/	/	0,00
	59a		0 (Kontr.)	53,5	37,5	70,2		30				
	b		1:320 000	62	41,5	67,0	3,2	30	/	/	/	0,00

Membranpotential- und Längenänderung des Frosch- Sartorius unter dem Einfluss von

Tabelle	Versuchs-nummer	Substanz	Giftkonzentration	Potent. vorher in mV	Potent. nachher in mV	%ualer Potent.wert n.15'	Potent. diff. n.15' =P	Länge vorher in mm	Primär-kontr. in mm	Sekund. kontr. n.15' in mm	%uale Längen-änder. n.15'=L	L/P
Tabelle12	60a	Crotalus terrificus-Gift	0 (Kontr.)	59,5	40	67,3		28				
	b		1: 2 500	60,5	33	54,6	12,7	28	0,27	0,13	0,46	0,03
	61a		0 (Kontr.)	58	38,5	66,5		31				
	b		1: 2 500	59	34	57,7	8,8	30	0,10	/	/	0,00
	62a		0 (Kontr.)	69	47,5	68,9		32				
	b		1: 5 000	54	33,5	62,1	6,8	31	0,20	0,19	0,61	0,09
	63a		0 (Kontr.)	54	38	70,4		27				
	b		1: 5 000	60,5	36	59,6	10,8	28	0,90	/	/	0,00
	64a		0 (Kontr.)	49,5	37	74,8		28				
	b		1:10 000	56	43	76,9	(2,1)	29	0,20	/	/	0,00
	65a		0 (Kontr.)	64	43,5	68,0		30				
	b		1:20 000	63	44	69,9	(1,9)	29	/	/	/	0,00
Tabelle13	66a	Vipera ammodytes-Gift	0 (Kontr.)	61,5	42	68,3		28				
	b		1: 2 500	57,5	31,5	54,8	13,5	29	0,20	/	/	0,00
	67a		0 (Kontr.)	66	44	66,7		30				
	b		1: 2 500	60	33	55,0	11,7	30	0,20	/	/	0,00
	68a		0 (Kontr.)	64	40,5	63,3		29				
	b		1: 5 000	65	39	60,0	3,3	30	/	/	/	0,00
	69a		0 (Kontr.)	64	44,5	69,6		32				
	b		1:10 000	64	39,5	61,8	7,8	31	0,27	/	/	0,00
Tabelle14	70a	Lysocithin	0 (Kontr.)	59	36	61,1		28				
	b		1: 1 250	61	27	44,2	16,9	28	3,17	3,08	11,00	0,65
	71a		0 (Kontr.)	60	38	63,4		30				
	b		1: 2 500	67,5	26,5	39,3	24,1	29	2,23	2,27	7,85	0,32
	72a		0 (Kontr.)	49	42	85,8		26				
	b		1: 5 000	61	29	47,5	38,3	27	0,51	1,15	4,26	0,11
	73a		0 (Kontr.)	51	32,5	63,8		27				
	b		1:10 000	56	21,5	38,4	25,4	29	0,47	/	/	0,00
	74a		0 (Kontr.)	42	29	69,1		27				
	b		1:10 000	44	30,5	69,4	(0,3)	27	0,27	0,15	0,55	0,00
	75a		0 (Kontr.)	55,5	35,5	64,0		27				
	b		1:20 000	53	36	68,0	(4,0)	26	0,57	/	/	0,00

Membranpotential- und Längenänderung des Frosch- Sartorius unter dem Einfluss von

Tabelle	Versuchs-nummer	Substanz	Giftkonzentration	Potent. vorher in mV	Potent. nachher in mV	%uale Potent. wert n.15'	Potent. diff. n.15' =P	Länge vorher in mm	Primär-kontr. in mm	Sekund. kontr. n.15' in mm	%uale Längenänder. n.15'=L	L/P
Tabelle15	76a	Histamin	0 (Kontr.)	66,5	48	72,2		31				
	b		1: 1 000	64	44,5	69,6	2,6	30	0,15	/	/	0,00
	77a		0 (Kontr.)	56,5	41,5	73,5		29				
	b		1: 1 000	58.5	42,5	72,7	0,8	29	0,43	/	/	0,00
Tabelle16	78a	Dinitrophenol	0 (Kontr.)	59	36,5	62,0		27				
	b		1: 2 000	59,5	19,5	32,8	29,2	28	1,00	0,15	0,53	0,01
	79a		0 (Kontr.)	55	39,5	71,9		26				
	b		1: 2 000	64,5	19,5	30,2	41,7	26	0,43	/	/	0,00
	80a		0 (Kontr.)	62	43,5	70,2		31				
	b		1: 2 500	61	24,5	40,2	30,0	31	0,50	/	/	0,00
	81a		0 (Kontr.)	50	32,5	65,0		29				
	b		1: 5 000	58	25	43,1	21,9	31	1,10	0,54	1,74	0,07
	82a		0 (Kontr.)	58,5	41	70,2		29				
	b		1:10 000	60	36	60,0	10,2	29	0,58	/	/	0,00
	83a		0 (Kontr.)	54	43,5	80,7		31				
	b		1:10 000	53,5	38	71,1	9,6	31	0,25	/	/	0,00
	84a		0 (Kontr.)	53,5	35	63,1		28				
	b		1:20 000	60	37	61,7	1,4	29	0,39	/	/	0,00
Tabelle17	85a	Digitonin	0 (Kontr.)	51	41,5	81,5		28				
	b		1: 2 500	53	18,5	34,9	46,6	29	12,70	9,20	31,63	0,68
	86a		0 (Kontr.)	54	32	59,3		29				
	b		1: 5 000	54	18	33,3	26,0	27	7,57	7,57	28,0	1,07
	87a		0 (Kontr.)	59	47	79,8		29				
	b		1: 20 000	57	26	45,6	34,2	28	11,51	4,25	15,18	0,44
	88a		0 (Kontr.)	52,5	41	78,2		27				
	b		1: 80 000	56,5	31,5	55,8	22,4	27	2,88	1,73	6,41	0,28
	89a		0 (Kontr.)	60,5	38,5	63,7		30				
	b		1:160 000	56,5	36	63,7	/	30	3,65	0,88	2,93	∞
	90a		0 (Kontr.)	51	27,5	54,0		28				
	b		1:320 000	53	29,5	55,7	(1,7)	28	/	/	/	0,00

Membranpotential- und Längenänderung des Frosch- Sartorius unter dem Einfluss von

Tabelle	Versuchs-nummer	Substanz	Giftkonzentration	Potential nachher in mV	Länge vorher in mm	Primär-kontrakt. in mm	Sekundär-kontraktur nach15' in mm	%uale Längenänderung n.15'= L
Tabelle18	91a	Gereinigtes Bienengift	0 (Kontr.)	43	32			
	b		1: 20 000	33	32	7,30	3,81	11,48
	92a		0 (Kontr.)	44,5	32			
	b		1: 40 000	31	32	2,43	2,30	7,2
	93a		0 (Kontr.)	43,5	29			
	b		1: 40 000	30	30	1,39	1,32	4,4
Tabelle19	94a	Dinitrophenol	0 (Kontr.)	42,5				
	b		1: 2 000	30		0,32	0,20	
	95a		0 (Kontr.)	43				
	b		1: 2 000	30,5		0,20	0,24	
	96a		0 (Kontr.)	48,5	32			
	b		1: 4 000	33	31	0,43	/	0,00
	97a		0 (Kontr.)	42	30			
	b		1: 4 000	34,5	31	0,31	/	0,00

In vivo- Versuche.
Einfluss der Urethan- Narkose auf das Membranpotential von Frosch- Sartorien.

Tabelle	Vers.-Nr.	Geschlecht, Gewicht in g	10 %ige Urethanlsg. ccm/g Tier	Präparationsart	Minuten nach Urethan	Potent. rechts in mV	Potent. links in mV	Minuten nach Urethan	Minuten n.Atemlähmung	Potent. links in mV	Potent. rechts in mV	Diff. zw. re u. li in mV
Tabelle 20	1	♀ ,ca 40	ca 0,037	Dekapit.	60	58,5	51,5					7
	2	♂ , 40	0,037	"	120	50	49					1
	3	♂ , 43	0,034	"	120	63	65					-2
	4	♂ , 35	0,037	Hautschnitt	20	58,5	/	80		52	/	6,5
	5	♂ , 35	0,030	"	20	52,5	/	60		52	/	0,5
	6	♂ , 39	0,037	"	20	58	/	60		62,5	/	-4,5
	7	♂ , 43,5	0,037	"	20	51,5	/	60		50,5	/	1
	8	♀ , 44,5	0,050	"	6	51		/	15	52,5	/	-1,5
	9	♂ , 33,5	0,050	"	7	/	52	/	30	/	52	0

In vivo- Versuche.

Einfluss von tierischen Giften auf das Membranpotential von Frosch- Sartorien.

Tab.	Vers.-Nr.	Geschl., Gewicht in g	10 %ige Urethanlösung ccm/g	Min. nach Ureth.	Potent. rechts in mV	Potent. links in mV	Substanz gamma/g	Min.n. Ureth.	Krämpfe	Minuten n.Giftgabe	Potent. links in mV	Potent. rechts in mV	Diff.zw. beiden Sartorien in mV	Atemlähmung	Herzschlag nach Thoraxeröffnung	Hypoxaemie
Tab.21	1	♀ ,57	/				+ Pg ,50			120	57,5	51,5	6			
	2	♀ ,60	/				Pg ,50			120	57,5	58	- 0,5			
	3	♂ ,33	0,037	10	51	/	Pg ,50	20		30	43,5	/	7,5	++	+	++
	4	♂ ,33	0,037	20	56,5	/	Pg,100	30		60	52	/	4,5	+	++	Ø
	5	♀ ,43,5	0,037	20	/	60	Pg,100	30		60	/	55	5	+	+	+
Tab.22	6	♀ ,36,5	0,037	20	52	/	NN++,10	30		60	49	/	3	+	+	Ø
	7	♂ ,32,5	0,037	20	/	66	NN ,10	30		60	/	65	1	++	+	Ø
	8	♀ ,43	0,037	20	59	/	NN ,25	30	++	60	49,5	/	9,5	Ø	++	Ø
	9	♂ ,35	0,037	20	/	59,5	NN ,25	30		60	/	58	1,5	+	+	+
	10	♂ ,34	0,037	20	59	/	NN ,50	30	+	60	44,5	/	14,5	++	++	+
	11	♂ ,35	0,037	20	/	55	NN ,50	30	+	60	/	40,5	14,5	++	++	+

\+ Pg = Gereinigtes Bienengift
++ NN = Naja nigricollis- Gift

Krämpfe ++ = starke Krämpfe
" + = schwache Krämpfe

Atemlähmung ++ = bleibende Atemlähmung
" + = vorübergehende "
" Ø = keine "

Herzschlag ++ = normaler Herzschlag
\+ = schwache Herztätigkeit oder Bradycardie

Hypoxaemie ++ = starke Hypoxaemie
\+ = schwache "
Ø = keine "

Phosphataustritt aus dem isolierten Frosch- Sartorius unter dem Einfluss von

Tabelle	Versuchs-nummer	Substanz	Giftkonzentration	Muskelgewicht in mg	gamma P/mg + anorganisch Ringerlösung	gamma P/mg anorganisch Muskelextrakt	gamma P/mg organisch Muskelextrakt	Gesamt-P/mg in γ
Tabelle23	1a			139		0,790		
	b			135		0,843		
	2a			93		0,811		
	b			92,5		0,841		
	3a			117		0,730		
	b			103,5		0,825		
	4a			191		0,867		
	b			194,5		0,920		
	a			191		0,860		
	b			194,5		0,870		
Tabelle24	5a			229	0,052	1,162	0,268	1,482
	b			179	0,072	1,012	0,476	1,560
	6a			204	0,075	0,890	0,243	1,208
	b			190	0,096	0,764	0,249	1,109
	7a			190	0,071	0,835	0,285	1,191
	b			187,5	0,044	0,839	0,378	1,261
	8a			170	0,037	0,822	0,113	0,972
	b			175	0,065	0,707	0,212	0,984
Tabelle25	9a	Gereinigtes	0 (Kontr.)	345	0,037	0,661	0,276	0,974
	b		1: 5 000	347	0,298	0,453	0,197	0,948
	10a	Bienengift	0 (Kontr.)	304	0,076	0,605	0,231	0,902
	b		1:50 000	307	0,208	0,537	0,228	0,973
Tabelle26	11a	Bienengift-	0 (Kontr.)	311	0,064	0,674	0,321	1,059
	b	Fraktion I	1: 5 000	312	0,224	0,506	0,216	0,946
	12a		0 (Kontr.)	236	0,110	0,647	0,308	1,065
	b		1:50 000	241	0,155	0,622	0,284	1,061
Tabelle27	13a	Naja haje-	0 (Kontr.)	263	0,061	0,807	0,353	1,221
	b	Gift	1: 5 000	253	0,454	0,483	0,256	1,193
	14a		0 (Kontr.)	221	0,095	0,709	0,251	1,055
	b		1:50 000	210	0,231	0,628	0,241	1,100

+ gamma P/mg = γ P/ mg Muskel

Herrn Professor Dr. Dr. W. N e u m a n n sage ich ergebensten Dank für die freundliche Überlassung des Themas und die Arbeitsmöglichkeit im Pharmakologischen Institut.

Herrn Privatdozenten Dr. E. H a b e r m a n n danke ich aufrichtig für seine stete Hilfsbereitschaft und Anleitung zur Durchführung der Arbeit.

E.) Literaturverzeichnis

Andrysek, K.	Dissertation Würzburg (1952)
Bayer, W.	Dissertation Würzburg (1952)
Fischer, F.G. und Neumann, W.P.	Biochem. Z. 324, 447 (1953)
Fiske, C.H. und Subbarow, Y.	Journ. of biol. Chem., 66, 375 (1925) zitiert nach Lohmann, K. und Jendrassik, L.
Fleckenstein, A.	Pflügers Archiv, 25o, 643 - 666 (1948)
Fleckenstein, A., Wagner, E. und Göggel, K.H.	" " , 253, 38 - 54 (195o)
Fleckenstein, A. und Richter, F.	" " , 257, 1 - 11 (1953)
Fleckenstein, A.	Arch. exper. Path. und Pharmakol. 216, 211 (1952)
Fleckenstein, A., Berg, G. Gayer, J. und Schönig, S.	Arch. exper. Path. und Pharmakol. 213, 265 - 282 (1951)
Fulchignoni, E.	Arch. di Fisiol., 35, 377 (1936) zitiert nach Gessner, O., Handb. der exper. Pharmakol., Ergänzungswerk 6, 27 (1938)
Habermann, E.	Die Naturwissenschaften, 18, 429 - 43o (1954)
Habermann, E.	Zeitschrift für physiolog. Chemie, 297, 1o4 (1954)
Habermann, E.	Arch. exper. Path. und Pharmakol. 225, 158 - 16o (1955)
Habermann, E.	Unveröffentlichte Versuche aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Würzburg
Hinsberg, K. und Lang, K.	Medizinische Chemie, 5o - 63 (1951)
Hofmann, H. Th.	Arch. exper. Path. und Pharmakol. 214, 523 - 533 (1952)
Houssay, B.A. und Mazzocco, P.	Cpt. rend. des séances de la soc. de Biol., 93, Nr. 31, 112o - 1122 (1925)
Hülstede, E.	Dissertation Würzburg (1951)
Kellaway, C.H. und Holden, H.F.	Austral. J. exper. Biol. a. med. Sci. 1o, 167 ff. (1932)
Kleine, A.	Dissertation Würzburg (1951)
Lamparter, W.	Dissertation Würzburg (1954)

Lohmann, K. und Jendrassik, L.	Biochem. Zeitschrift 178, 419 - 426 (1926)
Magistris, H.	Biochem. Zeitschrift 21o, 85 (1929)
Muralt, v. A.	Prakt. Physiologie, 253 (1948)
Neumann, W. und Habermann, E.	Arch. exper. Path. und Pharmakol. 222, 367 - 387 (1954)
Riesser, O.	Muskelpharm. Med. Verl. H. Huber, Bern, 39 (1949)
Röthel, M.	Dissertation Würzburg (1953)
Rothschuh, K.E.	Pflügers Archiv, 252, 445 - 467 (1949/5o)
Schaefer, H.	Elektrophysiologie Bd. I, 263 - 269 (194o)
Schlögl, W.	Dissertation Würzburg (1953)
Späth, W.	Dissertation Würzburg (1952)
Ther, L.	Pharmakolog. Methoden (1949)
Tschopp, E. und Tschopp, E.	Helvet. chim. Acta 15, 793 - 8o9 (1932)
Wlosczyk, L.	Dissertation Würzburg (1954)

Lebenslauf

Am 19. März 1932 wurde ich als Tochter des Verwaltungsgerichtspräsidenten Dr. Anton Heydenreich und seiner Ehefrau Else, geb. Schlick, in Coburg geboren. 1938 - 1942 besuchte ich in Saarbrücken und Coburg die Volksschule und daran anschliessend bis 1944 die Kathrin- Weissgerber- Oberschule in Saarbrücken. Von 1944 bis zum Abschluss des Abiturs im Jahre 1950 war ich Schülerin der Mädchen- Oberrealschule Alexandrinum in Coburg. Mein Studium begann ich im Wintersemester 1950/51 an der Universität Würzburg. Nach im April 1953 bestandener Ärztlicher Vorprüfung studierte ich, mit Ausnahme eines Sommersemesters an der saarländischen Universität in Saarbrücken, weiterhin in Würzburg. Im Oktober 1956 legte ich dort das Staatsexamen ab.

Ich versichere ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig verfasst und ausser der angegebenen Literatur keine weiteren Hilfsquellen benutzt habe.

Ich versichere ehrenwörtlich, dass ich bisher von keiner anderen Seite ein Dissertationsthema zur endgültigen Bearbeitung erhalten habe.

Hilde Heydenreich.

RUDOLF BAEHR DRUCK- UND WERBETECHNIK
WÜRZBURG EGLOFFSTEINSTR. 5